ESTUDIO DE FRECUENCIA DE CASOS DE INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS HUMANO: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE SEROLOGÍA

PHILCO Wendy, TERCEROS Patricia, TERRAZAS Katty, CARVAJAL Roger. Laboratorio de Virología. Instituto SELADIS
Correspondencia: *wendydasha@yahoo.com*

RESUMEN

El Citomegalovirus (CMVH), es un agente etiológico importante a nivel mundial, la infección puede producir severos cuadros clínicos con complicaciones importantes. Como todos los Herpes virus produce una infección latente, con frecuentes reactivaciones a lo largo de la vida. El propósito del presente trabajo es valorar la significancia de los resultados de serología para CMVH, identificar la importancia de la infección en nuestra población y establecer criterios de interpretación de las pruebas serológicas y de esta forma contribuir en la detección de casos con infección activa y el diagnóstico correcto.

Se recabaron 311 datos con solicitud de pruebas de serología para determinación de anticuerpos IgG e IgM anti-CMVH de individuos con sospecha de infección o enfermedad, que acudieron al laboratorio de Virología de SELADIS entre el 2001 al 2005. De los que 252 tenían resultados para ambos anticuerpos y el resto sólo para un tipo de anticuerpo. Se obtuvo un porcentaje de seropositividad para IgG de 68% y para IgM de 17%. De las 311 muestras el 15% (n=48) estaban en fase aguda, el 46% (n=144) se encontraban en fase latente. En el análisis de datos según género, se observó que en casos negativos y IgG(-) IgM(+), el género masculino presenta una leve predominancia, pero en general no existe una diferencia significativa entre ambos sexos. En el análisis por edades, se presentaron mayor número de casos con infección activa en infantes menores de 1 año y adultos jóvenes de 20 a 24 años. Se encontró una leve relación con el Virus de Epstein-Barr y Virus Herpes simples con frecuentes casos de reacción cruzada los cuales deben ser evaluados cuidadosamente por el médico. Se determinó también que existe mayor número de casos con actividad viral, entre los cambios de estación y en primavera/verano.

Palabras Clave

Citomegalovirus humano (CMVH), latencia, marcadores serológicos, ELISA.

ABSTRACT

The Citomegalovirus (CMVH), is an important etiolOgy agent at world-wide level, the infection can produce severe clinical pictures with important complications. As all the Herpes virus produces a latent infection, with frequent reactivations throughout the life. The intention of the present work is to value the significance of the results of serology for CMVH, to identify the importance of the infection in our population and of establishing criteria of interpretation of the serologies tests and this form to contribute in the detection of cases with active infection and the correct diagnosis. 311 data with request of tests of serology for determination of antibodies IgG and IgM anti-CMVH of individuals with suspicion of infections or diseases were successfully obtained, that went to the laboratory of Virology of SELADIS between the 2001 to the 2005. Of that 252 had results for both antibodies and the single rest for a type of antibody. A percentage of seropositivity for IgG of 68% and IgM of 17% was obtained. Of the 311 samples 15% (n=48) were in acute phase, 46% (n=144) were in latent phase. In the analysis of data according to sort, it was observed that in negative cases and IgG (-) IgM (+), the masculine presents/displays one slight predominance, but in general a significant difference between both sexes does not exist. In the analysis by ages, they appeared greater number of cases with active infection in smaller infants of 1 year and young adults of 20 to 24 years. Was one slight relation with the Virus of Epstein-Barr and simple Virus Herpes with frequent cases of crossed reaction which must be evaluated carefully by the doctor. One also determined that greater number of cases with viral activity exists, between the changes of station and in spring/summer.

Key words

Human Citomegalovirus (CMVH), serologies latency, markers, ELISA

INTRODUCCION

Citomegalovirus (CMVH), pertenece a la familia de los herpesvirus, como todos los miembros de esta familia



produce una infección latente, se refiere a la infección asintomática por CMVH, incluye los casos IgG (+) IgM (-), con frecuentes reactivaciones a lo largo de la vida del individuo.[1,2]

La primoinfección en niño y adulto sano es mayoritariamente asintomática. En los pocos casos con manifestaciones, estas se circunscriben a un síndrome de mononucleosis infecciosa, sin presencia de anticuerpos heterófilos y en ocasiones con ligera alteración de las pruebas funcionales hepáticas. En pacientes inmunocomprometidos (receptores de transplante, hemodializados, pacientes con SIDA, neonatos), la infección por CMVH produce severas complicaciones asociados a significativas proporciones de morbilidad y mortalidad. Dentro de las complicaciones más frecuentes en adultos se presentan adenopatías, hepatitis, diarrea, pneumonitis, corioretinitis, colitis, alteraciones del sistema nervioso central y retraso del crecimiento, hidrocefalia y/o microcefalia en neonatos así como también esta fuertemente relacionado a abortos y mortinatos.(3,4,5)

Entre las vías de trasmisión más importantes se encuentran la transfusión de productos sanguíneos, existe un riesgo importante de infección congénita o neonatal relacionada a la primoinfección materna en el momento de la gestación. CMVH se puede diseminar por la saliva, contacto sexual o por transplante de órganos de donadores seropositivos.(2,6,7)

El propósito del presente trabajo es valorar la significancia de los resultados de serología para CMVH, identificar la importancia de la infección en nuestra población y establecer criterios de interpretación de las pruebas serológicas y de esta forma contribuir en la detección de casos con infección activa y el diagnóstico correcto.

MÉTODOS

Población de estudio

Se recabaron datos de 311 muestras con solicitud de pruebas de serología para determinación de anticuerpos IgG e IgM anti-CMVH de individuos con sospecha de infección o enfermedad, que acudieron al laboratorio de Virología del Instituto de Servicios de Laboratorio y Diagnóstico en Salud (SELADIS) en La Paz - Bolivia entre enero 2001 a octubre 2005.

Se estratificaron los datos de absorbancias según los resultados en cuatro grupos, (tabla 1)

TABLA 1. Estratificación de datos de absorbancia según resultados.

Tipo de Infección	Perfil serológico
Ausencia de Infección	IgG (-) IgM (-)
Fase aguda y/o activa	IgG (-) IgM (+)
Fase aguda y/o activa	IgG (+) IgM (+)
Fase Latente	IgG (+) IgM (-)

Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

Metodología empleada

Detección de anticuerpos IgG anti-CMVH / IgM anti-CMVH

El marcador serológico IgG anti-CMVH fue detectado por ensayo inmunoenzimático ELISA de tipo directo, *(Human, Trinity, Orgenics)*, y el marcador IgM anti-CMVH por ensayo inunoenzimático ELISA de captura, *(Human, Trinity, Orgenic)*, según indicaciones del fabricante. En ambas técnicas los micropozos de poliesterino se encontraban sensibilizados con antígeno de CMVH adsorbidos a la superficie, que en contacto con el suero del paciente formaron un complejo antígeno-anticuerpo. Después de una serie de lavados fue añadido el conjugado anti IgG o anti-IgM humana marcado con peroxidasa, tras la adición del sustrato en presencia de anticuerpos específicos anti-CMVH se desarrolló un complejo coloreado, la lectura de los resultados se realizó con la ayuda de un lector de Elisa.(8,9,10)

La validación de los ensayos se realizaron utilizando controles primarios provenientes del set y controles secundarios que corresponden a muestras con absorbancias ya conocidas, que forman parte de la seroteca del laboratorio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados con los paquetes estadísticos, NCSS versión 2000 y SPSS versión 11.0.

RESULTADOS

De las 311 muestras, 252 presentaban resultados para ambos anticuerpos, y el resto tenía resultados sólo para un tipo de anticuerpo, tal como se especifica en (tabla 2).

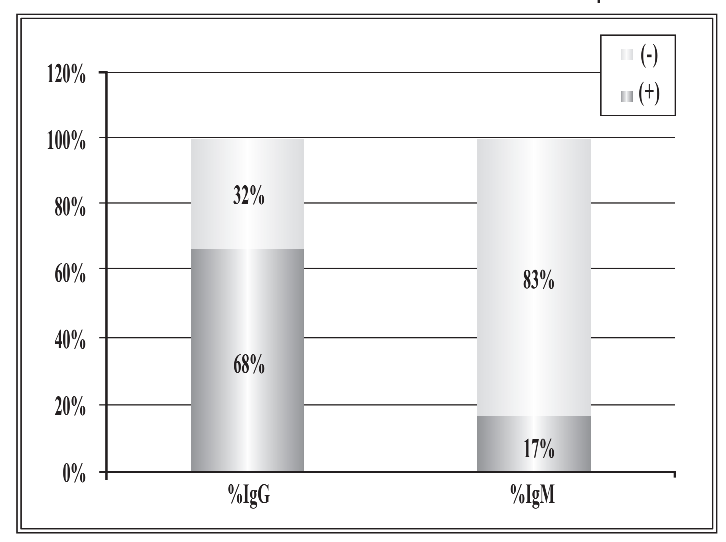
TABLA 2. Número de muestras según resultados para anticuerpos IgG e IgM anti-CMVH.

IgG	IgM	N° de muestras
(+)	(+)	27
(+)	(-)	144
(-)	(+)	15
(-)	(-)	66
(+)		10
(-)		10
	(+)	6
	(-)	33
TOTAL		311

Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

Según el análisis de las muestras del 2001 al 2005 (pacientes con patologías determinadas), se determinaron porcentajes de seroposivilidad para IgG un 68% y para IgM 17% (Fig. 1), distintos a los valores mundiales, que para IgG es de 90% y para IgG es de 90% y para IgM es de 4%.

FIGURA 1. Porcentajes de seropositividad de serología para anticuerpos IgG e IgM anti-CMVH, se trabajó con los datos de las 252 muestras con solicitud para ambas pruebas.

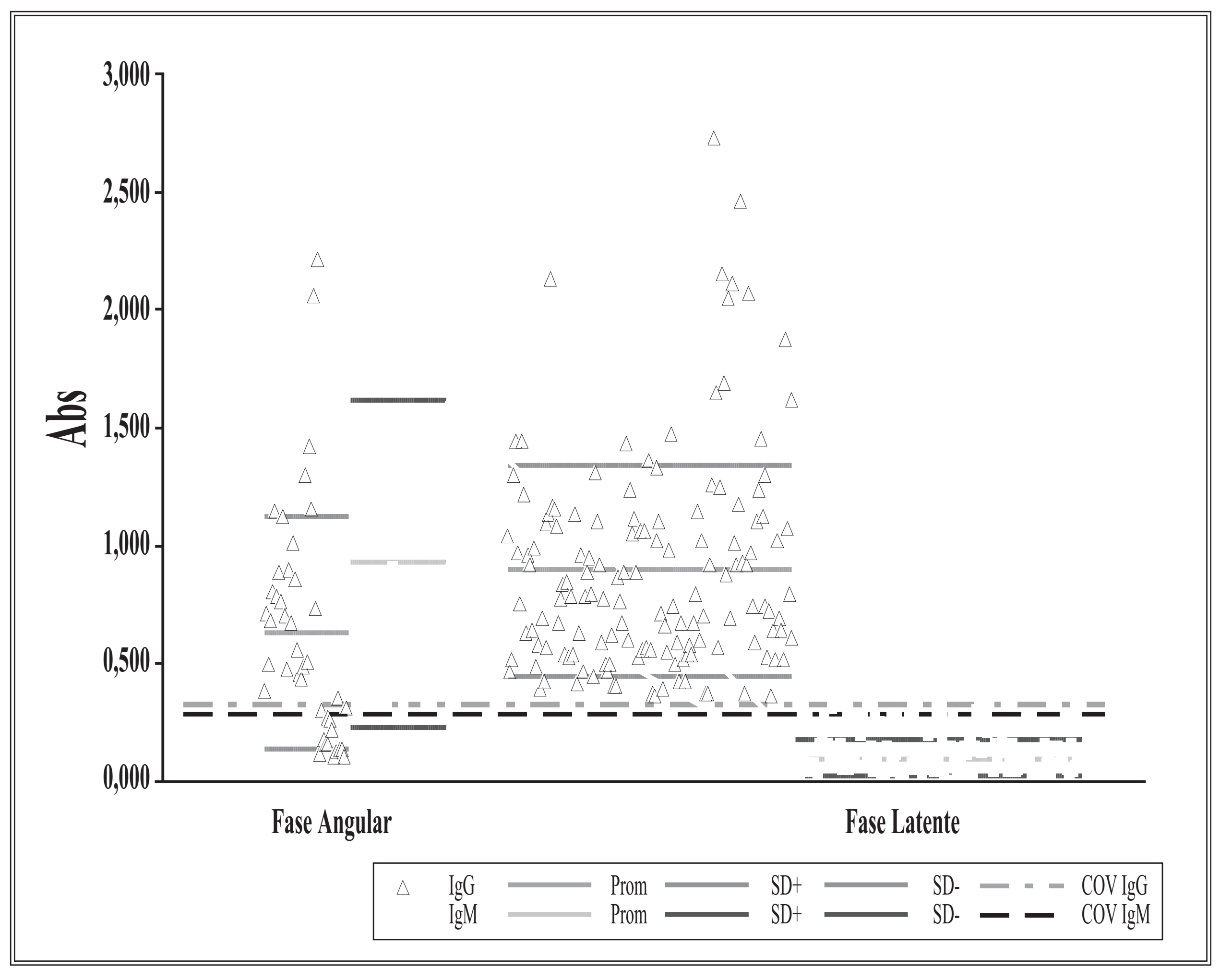


Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*



Se realizó el análisis por fases de infección, el 35% de individuos fueron seronegativos; un 16% considerados con infección activa, con IgM(+) (como marcador de fase aguda); un 46% en fase de latencia. Los resultados fueron estandarizados en función a la curva normal, con 95% de nivel de confianza y 1,96 de desviación estándar. Se obtuvieron los promedios de punto de corte (Cutt off/ COV) (Fig. 2)

FIGURA 2. Distribución de absorbancias de IgG e IgM anti-CMVH en fase aguda y fase latente según resultados obtenidos.

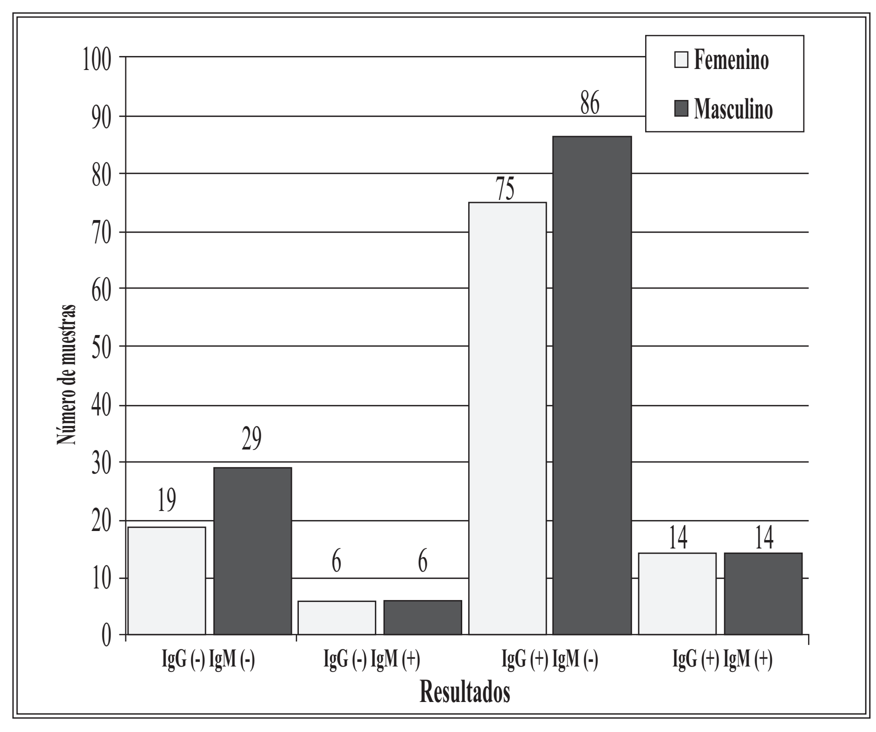


Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

El estudio evidenció que 15% (n = 48) de las muestras estaban en fase aguda, 46% (n=144) de las muestras se encontraban en fase latente.

Según género de las 310 muestras estudiadas, 249 presentaban datos para ambos anticuerpos, dando un total de 114 muestras de sexo femenino y 135 de sexo masculino. Según perfil serológico ambos sexos presentan mayor número de casos en fase de latencia con 86 casos para el sexo masculino y 75 para el sexo femenino, tal como lo muestra la (Fig. 3).

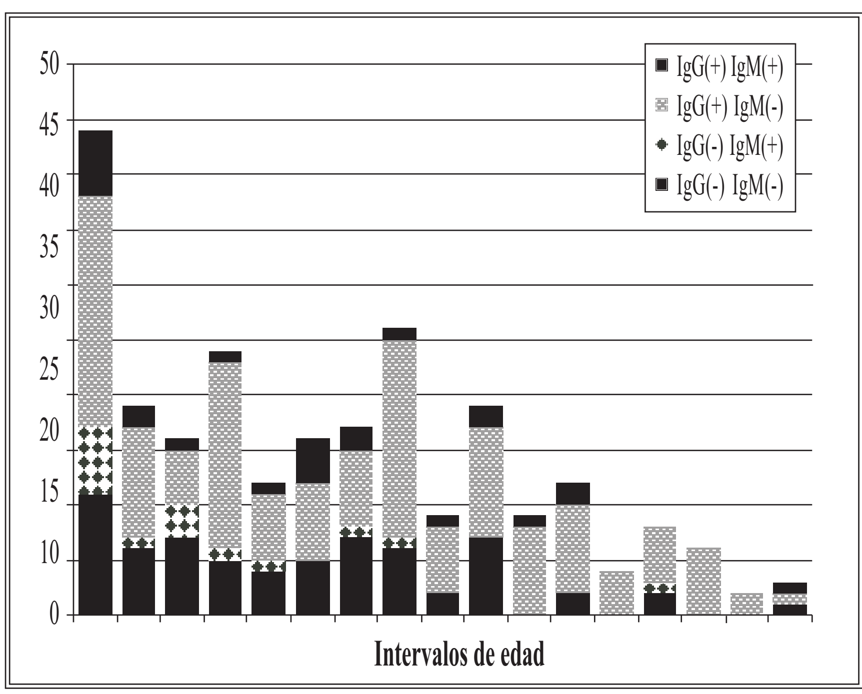
FIGURA 3. Número de muestras según género de acuerdo a resultados obtenidos con las pruebas serológicas para anticuerpos IgG e IgM.



Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

De acuerdo al análisis por edades tomando en cuenta los resultados de serología, de 304 muestras con datos de edad, la mayor población con solicitud de las pruebas para anticuerpos anti-CMVH fue de 0 a 4 años, con 86 muestras, de las que 62 eran de menores a un año (Fig.4).

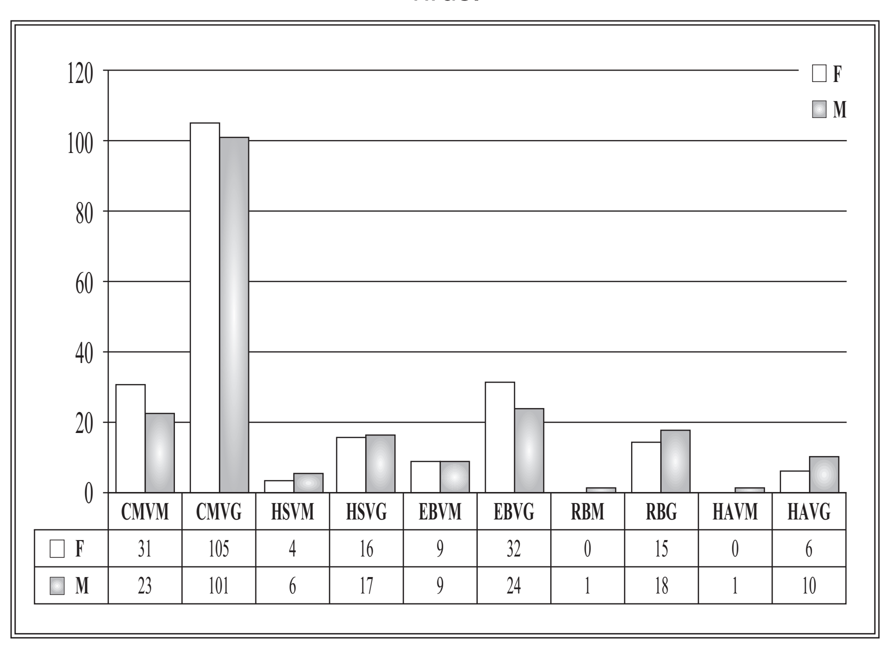
FIGURA 4. Número de muestras según edad de acuerdo a resultados obtenidos con las pruebas serológicas para anticuerpos IgG e IgM.



Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

Dentro del estudio también se tomaron en cuenta aquellos casos seropositivos para alguno de los marcadores serológicos de CMVH y que a la vez presentaban reactividad a otros agentes virales. Los casos fueron clasificados según sexo y son presentados en la Fig. 5.

FIGURA 5. Relación del número de casos positivos según género y pruebas de anticuerpos para otros virus.

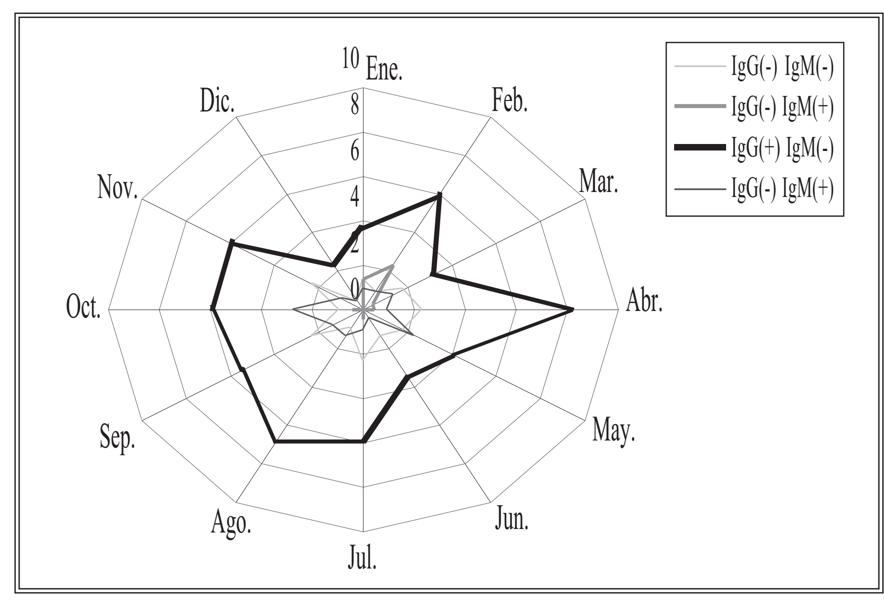


	CMVM	CMVG	HSVM	HSVG	EBVM	EBVG	RBM	RBG	HAVM	HAVG
F	31	105	4	16	9	32	0	15	0	6
M	23	101	6	17	9	24	1	18	1	10

Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

Se obtuvieron los análisis de las absorbancias de ambos anticuerpos anti-CMVH de acuerdo al tiempo por meses entre los años 2003 (con 61 muestras), 2004 (con 93 muestras) y del 2005 (con 90 muestras), no se tomaron en cuenta años anteriores debido a que el número de muestras eran menor por tanto no comparables. Realizando una sumatoria de casos por mes de los tres años y determinando sus porcentajes, se realizó el análisis de la influencia de los cambios de estaciones del año con el aumento de actividad viral.

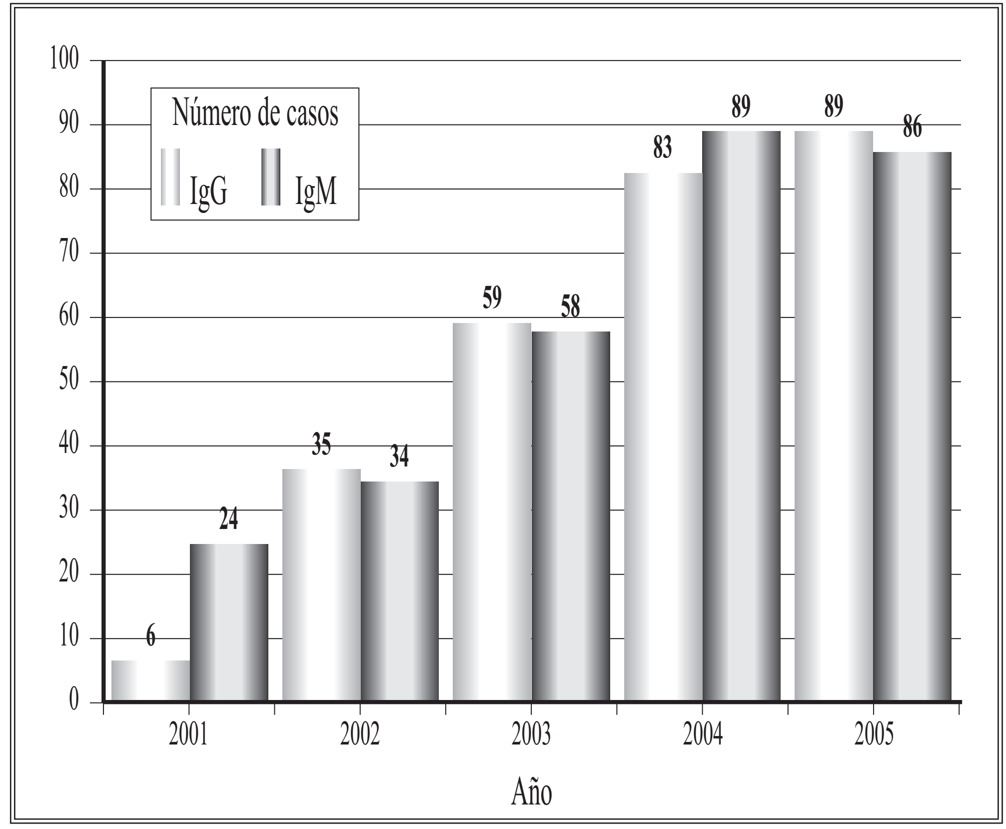
FIGURA 6. Número de casos en porcentaje de acuerdo a resultados obtenidos con las pruebas serológicas para anticuerpos IgG e IgM.



Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

Para determinar la demanda de pruebas serológicas, se tomaron en cuenta las 311 muestras de las que se obtuvo que un total de 272 solicitudes fueron para IgG y 291 solicitudes fueron para IgM el incremento de estas se observa en la Fig. 7.

FIGURA 7. Demanda de pruebas serológicas para anticuerpos IgG e IgM anti-CMVH de muestras de pacientes analizadas en el laboratorio de Virología - SELADIS en La Paz - Bolivia entre enero 2001 a octubre 2005.



Fuente: *Registros del Laboratorio de Virología SELADIS 2001-2005*

DISCUSIÓN

El análisis de los datos reflejaron una seropositividad para IgG de (68%) e IgM de (17%). Con respecto a los valores promedio mundiales 2, se observa un porcentaje de reactividad mayor para IgM, esto porque la población en estudio se trataba de pacientes con sospecha de infección o enfermedad, por tanto se los puede considerar inmunodeprimidos y con riesgo de presentar actividad viral. En relación al marcador IgG la frecuencia de reactividad demostrada en el trabajo coincide con los índices manejados mundialmente y comparables con otros países de Latinoamérica. Sin embargo los resultados no reflejan la prevalencia debido a las características de nuestra población por tanto se recomienda realizar un estudio abierto tomando en cuenta una población mayor.

Las 48 muestras con reactividad al marcador de infección aguda determinan que se trata de sujetos que se encuentran en etapa de primoinfección, reactivación o reinfección. En cuanto a las 144 muestras con un reactividad al marcador IgG se trata de individuos en la etapa de seroconversión, convalecencia, y que se encuentra en fase latente.

Dentro de la población en Fase Latente se encuentran sujetos en periodo de reactivación o reinfección. Según los resultados obtenidos podemos deducir que pacientes con absorbancias de IgG fluctúan entre 0.500 - 1.500 lo que puede ser indicativo de latencia o memoria inmunológica, las absorbancias por arriba de 2.000 con ausencia de reactividad del marcador IgM podrían indicar procesos de reactivación. Tal como se observa en la Figura 2.

El análisis de los resultados según género y los datos de serología no muestran diferencias significativas entre ambos sexos, por tanto se puede decir que no existe predisposición por ninguno en caso de infección o enfermedad. Sin embargo se ha establecido que la población más afectada son mujeres en edad fértil. El mayor riesgo de infección clínicamente significativa se asocia con la primoinfección materna contraída durante el primer trimestre de gestación, lo que puede originar el cuadro grave de enfermedad citomegálica con ictericia, hepatoesplenomegalia, exantema petequial y en ocasiones manifestaciones oculares y neurológicas, la mortalidad es del 20 al 30% y las secuelas neurológicas son graves para el infante (11, 12). Por tanto se recomienda realizar perfil serológico a las mujeres en etapa de gestación para establecer el estatus inmunológico y en el caso de madres seronegativas evitar posibles situaciones de riesgo de infección.

Según el grupo etáreo se observaron perfiles serológicos en fase activa es decir IgG (+) IgM(+) IgG (-) IgM (+) (tabla 1) en infantes menores de 1 año y jóvenes adultos de 20 a 24 años (Fig 5). Los resultados encontrados coinciden con estudios similares, estableciendo que debido a la inmadurez fisiológica del sistema inmunitario nacido y neonatos el grupo que presenta mayores complicaciones frente a una infección por CMVH. En cuanto al grupo de 20 a 24 años el mayor número de casos de infección activa es debido al inicio de la actividad sexual a esta edad, por lo cual existe mayor susceptibilidad a contraer la infección.

El estudio permitió evidenciar la relación entre la reactividad frente a otros agentes virales en el momento de la infección activa por CMVH (IgM anti-CMVH (+)) (Fig 6). Se tomaron en cuenta pacientes que contaban con pruebas positivas para otros virus. De 54 pacientes reactivos al marcador IgM anti-CMVH, 18 presentaron reactividad al marcador de fase aguda para el Virus Epstein-Barr (IgM anti-VEB), similar situación se presentó en el caso del Virus Herpes simplex VHS, para lo cual 10 casos también presentaron reactividad al marcador de fase aguda (IgM anti-VHS). Estos resultados pueden deberse a un proceso de reacción cruzada por tratarse de tres miembros de la familia Herpesviridae, los cuales comparten alrededor del 70 a 80% de su secuencia genómica.

Se observó mayor número de casos de primoinfección en febrero; y un incremento de actividad viral entre los meses de marzo y octubre, este incremento se puede deber a los cambios climáticos. En general se observó mayor número de casos en los meses que corresponden a las estaciones de primavera-verano, época en la cual existe un aumento de las actividades sociales, predisponiendo al contacto con individuos infectados con el virus.

En cuanto a la demanda, en el 2001 se implementó las pruebas de ELISA para la detección de anticuerpos anti-CMVH, periodo en el cual los médicos solicitaban mayormente pruebas para IgM, por ser marcador de fase aguda, pero en los siguientes años la demanda para IgG e IgM se equilibró, demostrando que los médicos comprendieron que se necesita de ambos marcadores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Murray P, Kobayashi G, Pfaller M, Rosental K. Microbiología Médica. 2ª ed. Barcelona: Harcourt Brace; 2000: 587-92.

2. Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, American Association of Blod Banks. Manual técnico. 13ª ed. Argentina; 2001: 815p.

3. Celia Coto y Ramón Torrez. Naturaleza y estructura de los virus. Edigem; 1996: 672-78.

4. Gimeno C, Navarro D, de Oña M, y Pérez J. Procedimientos en Microbiología Clínica. En: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2005.

5. Burleson F, Chambers T, and Wiedbrauk D. Virology; A Laboratory Manual. Academic Press 1992:138-43.

6. Fernando Montoya. Procedimientos modernos para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. IATREIA 1991; 4(3): 171-5.

7. Prine H, and Leber A. Validation of an In-House Assay for Cytomegalovirus Immunoglobulin G (CMV IgG) Avidity and Relaitonship of Avidity to CMV IgM Levels. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9(4): 824-27.

8. Maria del Pilar Crespo. El diagnóstico viral por el laboratorio. Colombia Médica 2000; 31:135-150.

9. David Navarro Ortega. Diagnóstico serológico de la infección por el citomegalovirus humano. Hospital Clínico y Facultad de Medicina, Valencia. 2002.

10. Engvall E, and Perlaman P. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Quantitative assay of immunoglobuline G. Immunochem 2001; 8. 871-74.

11. Distéfano A, Alonso A, Martin F, and Pardon F. Human Cytomegalovirus: detection of congenital and perinatal infection in Argentina. BMC Pediatrics 2004: 4: 11.

12. Munro sc, Hall B, Whybin LR, Leader L, Robertson P, Maine HT, and Rawlinson WD. Diagnosis of and Screening for Cytomegalovirus Infection in pregnant Women. J Clin Microbiol 2005; 43(9): 4713-18.

13. Genómica, HERPLEX. Detección y tipado de Herpesvirus Humanos para diagnóstico in Vitro. [PDF]. Versión 6.0; 2003.

14. Lessa de Castro S. Reconstitución inmunológica en niños receptores de transplante de progenitores hematopoyéticos. [Tesis Doctoral]. Barcelona; Universidad autónoma de Barcelona, Facultad de Medicina: 2001.

15. Resik S, Enamorado A, Tallo Y, Suárez C, Kourl V, Acosta B, y Garcia S. Prevalencia de anticuerpos contra virus Herpes Simple, virus Epstein Barr y Citomegalovirus en un grupo de pacientes con hemodiálisis realizada. Rev. Cubana Med Trop 1999; 51(3): 172-6.

16. Osarogiagbon R, Defor T, Weisdorf M, Erice A, Weisdorf D. CMV Antigenemia Following Bone Marrow Transplantation: Risk Factors and Outcomes. A. Soc. For Blood and Marrow Transplantation 2000: 280-88.

17. Chacón de Petrola, Naveda O., Castillo de Febres O., Flores M., Casanova de Escalona L., Castro L. y Navega M. Prevalencia de anticuerpos anti-citomegalovirus y anti-virus Epstein Barr en Valencia, Estado Carabobo, Venezuela. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 2002; 22(2): 30-5.

18. Revello M, Forini G, and Gerna G. Clinical Evaluation of a Chemiluminescence Immunoassay for Determination of Immunoglobulin G Avidity to Human Citomegalovirus. Clin. Diagns.Lab. Imnlg. 2004; 11(4): 801-5.

19. Ortega J, Garcia P, Berron R, Espinosa F, Arroyave C, and Onuma E. Inmunodeficiencias; Guías para su diagnóstico y Tratamiento. COMAAIPE. 2005.

20. A. Cardona, A. Sorní, A. Hostalot, J. Rosal, J. Mercé, JA Izuet. Enfermedad de Menetrier infantil e infección aguda por citomegalovirus. Notas Clínicas (Espñ) 2006; 64(05): 478-84.

21. Hogrefe W, Moore R, Nixon M, Wagner M, and Prince H. Performance of immunoglobulin G (IgG) and IgM Enzyme Linked Immunosorbent Assays using a West Nile Virus Recomibinant Antigen (preM/E) for Detection of West Nile Virus and other Flavivirus Specific Antibodies. J Clin Microbiol 2004; 42(10): 4641-48.

22. Lazzarotto T, Galli C, Pulvirenti R, Rescaldani R, Vezzo, La Gioia A, Martinelli C, La Rocca S, Agresti G, Grillner L, Nordin M, Van Ranst M, Combs B, Mine GT, and Landini MP. Evaluation of the abbott AxSYM Cytomegalovirus (CMV) Immunoglobulin M (IgM) Assay in Conjunction with Other CMV IgM Test and a CMV IgG Avidity Assay. Clin Diagn Lab Immunol 2001; (1): 196-98.

23. Wilhelmi, et al. Viruses causing gastroenteritis. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI 2003; 9: 247-262.

24. D'Artagnan J, and Valdés RA. Las citocinas en la patogénesis por citomegalovirus. Rev. Biomed. 2000; 11: 293-300.

25. Espy M, Patel R, Paya C, and Smith T. Comparison of three Methods for Extraction of Viral Nucleic Acids from Blood Cultures. J. Clin. Microbiol. 1995; 33(1): 41-4.

